Aus dem Staatlichen Veterinäruntersuchungsamt
Münster in Westfalen
Direktor: Oberregierungsveterinärrat Dr. Münker

Untersuchungen über das Vorkommen des M. avium und anderer Mykobakterien im Kot von Hühnern

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae
durch die
Freie Universität Berlin

vorgelegt von
J o s e f S c h ü r m a n n
Tierarzt aus Nottuln / Westfalen

Berlin 1967
Journal-Nr. 577

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549005_0107

Aus dem Staatlichen Veterinäruntersuchungsamt
Münster in Westfalen
Direktor: Oberregierungsveterinärrat Dr. Münker

Untersuchungen über das Vorkommen des M. avium und anderer Mykobakterien im Kot von Hühnern

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae
durch die
Freie Universität Berlin

vorgelegt von
J o s e f S c h ü r m a n n
Tierarzt aus Nottuln / Westfalen

Berlin 1967
Journal-Nr. 577

Gedruckt mit Genehmigung
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. G. Bergmann

Referent: Prof. Dr. H. Hartwigk

Korreferent: Prof. Dr. Dr. M. Lerche

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Juli 1967

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A.	Einleitung	2
B.	Schrifttum	3
	1. Vorkommen und Bedeutung des M.avium beim Geflügel	3
	2. Vorkommen und Bedeutung der sogenannten atypischen Mykobakterien.	7
	3. Differenzierungsmethoden	8
C.	Eigene Untersuchungen	
	I. Untersuchungsmaterial und Methodik	13
	II. Untersuchungsergebnisse	17
	1. Ergebnisse der Kulturversuche	17
	2. Ergebnisse der weiteren Differenzierung	20
D.	Besprechung der Ergebnisse	36
E.	Zusammenfassung	42
F.	Schriftumsverzeichnis	44

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A. Einleitung

Untersuchungen über das Vorkommen von Mykobakterien, insbesondere des M. avium beim Huhn sind von erheblicher praktischer Bedeutung. Bisher wurden zur Feststellung der Geflügeltuberkulose beim Huhn die pathologisch-anatomische Untersuchung, die Tuberkulinprobe und die Frischblutschnellagglutination mit mehr oder weniger gutem Erfolg angewandt.

Von dem besonders erstrebenswerten Erregernachweis beim lebenden Tier ist noch kaum Gebrauch gemacht worden. Hierfür bietet sich die Züchtung von Mykobakterien aus Kotproben an. Es soll darum in dieser Arbeit der Versuch gemacht werden, mit der Kotkultur Aufschlüsse über die Verbreitung der Geflügeltuberkelbakterien und anderer Mykobakterien in kleinen extensiv und großen intensiv genutzten Hühnerbeständen zu gewinnen.

Diese Untersuchungen verdienen besonderes Interesse wegen der nicht seltenen Schweinetuberkulose, die heute fast ausschließlich durch das M. avium verursacht wird. Auch unspezifische Tuberkulinreaktionen bei Rindern sind häufig auf eine Infektion mit aviären Tuberkelbakterien zurückzuführen.

B. Schrifttum

1. Vorkommen und Bedeutung des M. avium beim Geflügel.

Robert Koch beschrieb als erster den Erreger der Geflügeltuberkulose und erklärte ihn zunächst für identisch mit dem Erreger der Säugetiertuberkulose. Doch schon Nocard und Roux (79) wiesen auf deutliche Unterschiede hin. Rivolta (Zit. nach Maffucci (59)) und Maffucci (59) erkannten die Geflügeltuberkulose als selbständige Krankheit.

In der Folgezeit durchgeführte Untersuchungen erwiesen, daß die Geflügeltuberkulose über die ganze Erde verbreitet ist. Von ihr werden alle Arten von Geflügel, am häufigsten jedoch die Hühnervögel (Haushuhn, Pute, Perlhuhn, Fasan und Pfau) befallen. Tauben und Wassergeflügel (Ente, Gans, Schwan) sowie Stubenvögel erkranken nur selten. In freier Wildbahn tritt die Geflügeltuberkulose nur vereinzelt auf. (Krähen, Falken, Rebhühner, Lachmöven, Sperber). Neben den Vögeln können spontan oder nach experimenteller Infektion folgende Säugetiere erkranken: Schwein, Pferd, Ziege, Schaf, Katze, Hund, Meerschweinchen, Kaninchen, Maus und Ratte. Auch der Mensch ist für Infektionen mit M. avium empfänglich (Deutsch (27), Eber und Pallaske-Eber (29), Luke (58), Meyn (64), Nassal (69, 70, 73), Nassal und Muser (75), Burgisser und Schneider (23), Leslie (56), Schlau (90), Schürmann (96), Hummel (41), Stoll (101), Schließer (92), Schaaf und Beerwerth (89), Röder (85), Meissner (63), Käppler (42).

Von besonderem Interesse sind für die Themastellung dieser Arbeit die an Hühnern erhobenen Befunde.

R a e b i g e r (83) berichtet, daß in einzelnen Ortschaften der Provinz Sachsen 40 - 75 % der Gehöfte mit Geflügeltuberkulose verseucht waren. Nach E b e r und P a l l a s k e - E b e r (29) waren 5 % der zerlegten Hühner mit Tuberkulose behaftet. Im Bericht des Preußischen Landwirtschaftsministeriums vom Jahre 1932 wird die Geflügeltuberkulose mit 6,3 % der in den Instituten sezierten Hühner angegeben. Dabei traten landschaftliche Unterschiede von 1,7 - 20 % auf. Nach 1945 haben H e r t e r (39), B e c k e r (4) und N a s s a l (69) in verschiedenen deutschen Landesteilen eine Verseuchung von 1,2 bis 21,4 % festgestellt. Nach Meinung von S c h l i e ß e r (91) ließen frühere Schätzungen auf Grund von Literaturangaben einen Befall von etwa 10 % der Geflügelbestände vermuten.

Aufgrund der Sektionsergebnisse steht die Geflügeltuberkulose als Todesursache bei H e r t e r (39) an erster, bei B e c k e r (4) an zweiter und bei N a s s a l (69) an sechster Stelle aller Geflügelsektionen. R u d i n s k i (86) sezierte 5000 Hühner und tuberkulinisierte 2000. Bei verschiedenen Rassen fand er einen Verseuchungsgrad von 9,25 % bis 37,07 %.

Beachtung verdienen auch die in neuerer Zeit durchgeführten Untersuchungen mittels der Tuberkulin- und Schnellagglutinationsproben. D r a w e r (28) tuberkulinisierte 5533 Hühner aus 292 Beständen und fand 49,9 % der Bestände und 4,5 % der Hühner infiziert. N a s s a l und M u s e r (75) erzielten ein ähnliches Ergebnis. 13632 Hühner aus 626 Beständen wurden untersucht. 49,2 % der Bestände und 6,4 % der Hühner waren verseucht. S c h l i e ß e r (92) kommt zu dem Ergebnis, daß 5 bis 7 % aller Hühner infiziert sind.

Der unterschiedliche Befall in Betrieben verschiedener Struktur wird eingehend dargelegt. N a s s a l und M u s e r (76) fanden im Jahre 1962 3,8 % der Hühner aus Großbeständen und 26,1 % aus Kleinbeständen infiziert. S c h l i e ß e r und B e r g e r (94) ermittelten aus 53 bäuerlichen Beständen mit 2428 Hühnern 81,1 % der Bestände und 6,6 % der Hühner als tuberkulös. N a s s a l (74) tuberkulinisierte 70000 Hühner aus 3000 bäuerlichen Beständen und fand 50 % der Bestände und 8 % der Hühner infiziert. Von 187 Wirtschaftsgeflügelbeständen mit 173000 Hühnern waren dagegen nur 30 % der Bestände und 0,6 % der Hühner befallen. Die von den verschiedenen Autoren angegebenen Zahlen über den Verseuchungsgrad weisen erhebliche Unterschiede auf. Diese sind im wesentlichen in der landschaftlich stark voneinander abweichenden Struktur der Geflügelhaltungen zu suchen. Übereinstimmend wird die Geflügeltuberkulose am häufigsten in kleineren und bäuerlichen Geflügelhaltungen und in solchen, in denen die hygienischen Verhältnisse ungünstig sind, gesehen, weniger dagegen in großen Zuchten und gutgeleiteten Hühnerfarmen.

Die allgemein bekannte Tatsache, daß Geflügeltuberkulose bei älteren meist überjährigen Hühnern gefunden wird, wird noch einmal von F e o k t i s s t o w (31) und D r a w e r (28) herausgestellt.

Die Infektion des Huhnes mit M. avium erfolgt nach F e o k t i s s t o w (31) und M e y n (64) vornehmlich durch verunreinigtes Futter und Trinkwasser. Nach B e r e n c s i und S z a b o (7) wird M. avium im Darm der Hühner nicht geschädigt, M. tuberculosis dagegen bei der Darmpassage vernichtet.

Nach H a r t w i g k (37) ist die Geflügeltuberkulose in den kleinbäuerlichen Geflügelhaltungen stark mit dem Gelände verwurzelt. Die Tenazität der Geflügeltuberkelbakterien soll nach M a f f u c c i (59), K o c h und R a b i n o w i t s c h (48) die der übrigen Mykobakterien übersteigen. Besonders bedeutsam für die Epizootologie sind darum auch Stallverhältnisse und Ausläufe. T a u b i t z (105) hält für eine natürliche Entseuchung von Stall und Ausläufen 6 bis 8 Monate erforderlich. S o r s n e v (98) fand von 55 Torfstreuproben 37 mit Mykobakterien behaftet. Mit 2 aus diesem Material gezüchteten Stämmen erzielte er positive Tuberkulinreaktionen bei Hühnern. W a r j u s c h i n u.a. (109) stellten bei Untersuchungen in verschiedenen Hühnerfarmen fest, daß sich infizierte Ställe erst nach drei Jahren selbst reinigen. Nach L e v c e n k o (57) bleiben die Erreger der Geflügeltuberkulose unter verschiedenen Umweltverhältnissen 4 bis 18 Monate infektionstüchtig.

2. Vorkommen und Bedeutung der sogenannten atypischen Mykobakterien.

In dem mir zugänglichem Schrifttum waren Angaben über das Vorkommen dieser Mykobakterien beim Huhn nicht enthalten. Trotzdem ist sicherlich für das Huhn mancherlei Gelegenheit zur Aufnahme dieser Keime gegeben, da sie in der Außenwelt außerordentlich zahlreich sind.

Es sei hier nur auf die Untersuchungen von Moeller (68), der sie im Pflanzenstaub nachwies, sowie auf die Ergebnisse von Schneiderlin (95) und Herr (40), die sie in Bodenproben feststellten, hingewiesen. Im Rinderkot fanden sie unter anderen Olt (80), Fritze (33), Thieringer (107), Albert (1) und Beerwerth (5). Bugge und Kiesig (22) isolierten sie im Jahre 1919 aus erkrankten Runkelrüben. In der Milch vorkommende Mykobakterien können gelegentlich zu Fehldiagnosen führen. (Stöffler (100), Meyn und Stöffler (67)).

Besonderes Interesse finden die sogenannten atypischen und saprophytären Mykobakterien, seitdem sie häufiger aus Krankheitsprozessen des Menschen isoliert werden konnten. Hier sind vor allen Dingen Stämme der Gruppe III nach Runyon, die auch die aviumähnlichen und sogenannten Batteystämme enthält, von erheblicher Wichtig-

keit. (Meissner (60, 62, 63), Bojalil und Cerbon (18), Bojalil, Cerbon und Trujillo (19), Käppler (42), Youmans (112).

Auch skotochrome Stämme der Gruppe II nach Runyon werden gelegentlich beim Menschen gefunden (Bojalil (17), Pattyn (81), Reinhold (84), Gerbeaux und Mitarbeiter (35). Die Bedeutung von Mykobakterien dieser Gruppe als Krankheitserreger beim Menschen wird von Käppler (43, 44) wohl mit Recht als nur gering eingeschätzt.

Auch aus tuberkuloseähnlichen Veränderungen unserer Haustiere werden gelegentlich skotochrome Mykobakterien der Gruppe II gezüchtet. Stöckl und Mathois (99) fanden sie wie andere in tuberkulös veränderten Schweinelymphknoten.

Von den photochromen Mykobakterien der Gruppe I nach Runyon scheint nach den Untersuchungen von Viallier, Casanova und Lanery (108), sowie Käppler (44) das M. kansasii als Krankheitserreger beim Menschen nicht ganz selten zu sein.

Den schnellwachsenden Mykobakterien der Gruppe IV kommt wohl kaum eine pathogene Bedeutung zu. (Bojalil, Cerbon und Trujillo (19), Käppler (44).

3. Differenzierungsmethoden

a) Morphologie

Größenverhältnisse und Form der Mykobakterien sind sehr unterschiedlich. So finden sich im Untersuchungsmaterial und auch im Kulturausstrich verschieden lange, verschieden dicke Stäbchen. Methoden, die durch verschiedene Spezialfärbungen typische von atypischen und pathogene von apathogenen Mykobakterien trennen sollten, sind letzten Endes ergebnislos geblieben

(Gasis (34), Lange (52, 53), Meyn und Stöffler (67), Klein (47), Buss (24), Lämmler (51)).

Auch Wachstumsweise und Kolonieform auf künstlichen Nährböden sind zur Differenzierung nur bedingt zu verwerten. Einzelergebnisse sind nicht vergleichbar, da sie außerordentlich stark von dem verwendeten Nährboden, von dem Röhrchenverschluß, der Bebrütungstemperatur und der Bebrütungsdauer abhängig sind. Von einiger Wichtigkeit ist allerdings das Vermögen oder Unvermögen einzelner Arten auf gewöhnlichen Nährböden zu wachsen. Eine gewisse Trennung erlaubt auch die besonders bei apathogenen Arten sehr häufige intensive Farbstoffbildung (Haag (36), Eichbaum (30), Meyn und Stöffler (67), Runyon (87), Boisvert (16)).

b) Kulturelle Differenzierung

Auf den verschiedenartigen Wachstumskriterien und dem verschiedenen Farbstoffbildungsvermögen bei Lichtzutritt und im Dunkeln baut sich die Klassifizierung der sogenannten atypischen Mykobakterien nach Runyon auf. Sie hat sich in den letzten Jahren immer mehr durchgesetzt. (Meissner (60, 61), Nassal (72), Bojalil, Cerbon und Trujillo (19), Hartwigk und Stottmeier (38), Brühn (21), Beerwerth (5)). Sie erfolgt nach folgenden Kriterien:

Gruppe I: Photochromogene Mykobakterien bilden durch Lichteinwirkung gelbes Pigment. Zu ihnen gehören M. balnei, M. kansasii und andere.

Gruppe II: Skotochromogene Mykobakterien. Diese färben sich ohne Lichteinwirkung gelb bis orangefarbig.

Gruppe III: Langsam wachsende Mykobakterien, die weder bei Licht noch bei Lichtabschluß Farbstoffe bilden. Vertreter dieser Gruppe sind: M. avium, die aviumähnlichen Mykobakterien und die Battey-Stämme.

Gruppe IV: Schnellwachsende Mykobakterien, die als saprophytär gelten und im Anfang kein Pigment bilden. Später färben sich die Kolonien dieser Bakterien rötlich bis orangerot. Dieser Gruppe gehören M. smegmatis, M. phlei, M. fortuitum und M. giae an.

Bei der Beurteilung der Wachstumskriterien wird allerdings von Meissner (60, 61, 62) und Beerwerth (5) darauf hingewiesen, daß sie mit einiger Vorsicht zu betrachten sind. Ältere mehrfach passagierte Stämme sind weitgehend an die Nährböden angepaßt und vermögen erheblich schneller und üppiger zu wachsen.

Zur weiteren Differenzierung sind von besonderer Wichtigkeit die Hitzeresistenz gegenüber einer Temperatur von 60°C, das Wachstum bei 47°C, bei Zimmertemperatur, auf gewöhnlichen Nährböden sowie das Verhalten in Lackmusmilch. Auf diesen Faktoren bauen vor allen Dingen die von Meyn und Stöffler (67), Nestle (78) und Lebek (54, 55) angegebenen Differenzierungsmethoden auf.

Die Hitzeresistenzprüfung bei 60°C für 4 Stunden dient zur Unterscheidung des M. phlei von den übrigen Saprophyten, M. smegmatis ist nicht hitzeresistent, wächst aber wie zahlreiche andere Mykobakterien noch bei 47°C. Die bei Kaltblütern vorkommenden Arten wie M. fortuitum und M. thamnopheos vermögen bei dieser Temperatur nicht mehr zu gedeihen. Lackmusmilch wird von den meisten saprophytären

Stämmen innerhalb von 10 - 20 Tagen blau gefärbt. M. phlei verändert die Lackmusmilch besonders rasch. Das Wachstum bei Zimmertemperatur ist zur Differenzierung relativ wenig geeignet. Meissner (61) stellte bei frisch aus Hühnern isolierten M. avium Stämmen kein Wachstum fest. Sie sah allerdings, daß ältere Stämme und solche, die aus anderem Material isoliert wurden, bei 22°C gut zu wachsen vermochten.

c) Biochemische Differenzierung

Zahlreiche verschiedene Verfahren sind bisher zur Differenzierung von Mykobakterien versuchsweise benutzt und zum größten Teil wieder verlassen worden. Auch die in Bergey's Manual (6) angegebenen Methoden und Möglichkeiten haben sich nur teilweise als brauchbar erwiesen. So ist die bei zahlreichen Bakterienarten erfolgreich durchzuführende Prüfung der Kohlehydratvergärung bei Mykobakterien nur wenig geeignet. Sie wird in letzter Zeit lediglich von Bojalil, Cerbon und Trujillo (19) als vorteilhaft herausgestellt.

Als erfolgreich hat sich aber die von Bönicke (8, 9, 10), Bönicke und Lisboa (15) sowie Bönicke, Dittmar und Lisboa (12) entwickelte Prüfung des Amidspaltungsvermögens erwiesen. Sie eignet sich ganz besonders zur Differenzierung saprophytärer Arten aus der Gruppe IV nach Runyon sowie zur Bestimmung des M. avium und seiner Verwandten aus der Gruppe III nach Runyon.

Durch Bönicke wurden bisher die Amidasepektren für folgende Mykobakterien festgelegt:

	Acetamid	Benzamid	Harnstoff	Isonicotinamid	Nicotinamid	Pyrazinamid	Salicylamid	Allantoin	Succinamid	Malonamid
M. borstelense			+		+	+				
M. diernhoferi	(+)		+		+	+				
M. fortuitum	+		+		+	+		+		
M. phlei			+		+	+				
M. smegmatis	+	+	+	+	+	+	+		+	
M. thamnopheos	(+)		+			+		+		
M. vaccae		+	+	+	+	+		+		

Die Differenzierung der drei Arten M. borstelense, M. vaccae und M. diernhoferi war Bönicke und Juhasz (13, 14) und Bönicke (11) vor allem auf Grund der deutlich von anderen Arten unterschiedlichen Amidspaltung möglich.

e) Tierversuche

Die Differenzierung des M. tuberculosis, des M. bovis und des M. avium mittels Tierversuche an Meerschweinchen, Hühnern und Kaninchen gestattet im allgemeinen eine zuverlässige Diagnose.

Tierversuche mit sogenannten atypischen Arten waren bisher nicht sonderlich erfolgreich. Lediglich mit sehr hohen Dosen konnten einige wenig spezifische Veränderungen erzielt werden. (Arand (2), Tarshis und Frisch (103, 104), Crow u.a. (26), Wilson und Morten (110), Butler und Josephson (25)). Eine etwas größere Pathogenität scheinen nach Meissner (60, 62) das M. ulcerans und nach Saenz (88) das M. balnei zu haben. Eine gewisse Pathogenität findet man auch bei einzelnen photochromen Stämmen und Stämmen der Gruppe III mit

Verkäsung an der Impfstelle und Reaktion der regionären Lymphknoten beim Meerschweinchen (M e i s s n e r (60, 61), P o l l a k und B u h l e r (82)).

Durch hohe Dosen eines photochromogenen Stammes konnte K u b i n (50) bei intravenöser Infektion eine generalisierte Granulomatose erzielen. Diese fehlte bei Infektionen mit skotochromen Stämmen.

Stämme der Gruppe III verursachen bei Kaninchen nach längerer Versuchsdauer typische Veränderungen der Gelenke und Sehnenscheiden (K o v a c s (49), B e e r w e r t h (5).

Skotochrome und schnellwachsende Stämme werden von T a r s h i s und F r i s c h (103, 104) im allgemeinen als apathogen angesehen.

Von Interesse im Rahmen dieser Arbeit sind noch Untersuchungen von T e s i n k, R o b i j n s und J o b s e (106) über den Nachweis von aviären Tuberkelbakterien aus Fäces und Bodenproben. Die intraperitoneale Injektion von nicht vorbehandelten Kot- und Bodenproben wurde von mageren Hühnern gut vertragen. Tuberkelbakterienhaltiges Material erzeugte in ca. 2 Monaten ein perlsuchtähnliches Sektionsbild.

C. Eigene Untersuchungen

I. Untersuchungsmaterial und Methodik

Das Untersuchungsmaterial stammte aus 3 verschiedenen Bestandsarten.

1. 425 Kotproben aus 19 bäuerlichen, extensiv genutzten Kleinbeständen aus 3 verschiedenen Gemeinden.

2. 200 Kotproben aus einem Großbetrieb mit ausschließlicher Käfighaltung der Jungtiere und Legehennen.

3. 210 Kotproben aus einem Großbetrieb mit Käfighaltung der Legehennen und voraufgegangener Bodenhaltung der Jungtiere.

Zu 2: Die Küken wurden gleich nach dem Schlupf in Käfigen zu jeweils 30 Tieren untergebracht und verblieben in diesen bis zur 18. Lebenswoche und wurden dann in Legekäfige zu je 4 Hennen umgestallt.

Zu 3: Bis zum Einstallen in Legekäfige verblieben die Jungtiere in Bodenhaltung ohne Tageslicht bei einer Besatzdichte von etwa 8 Tieren pro qm. Als Einstreu wurde Torf mit Hobelspänen verwendet.

Die Einteilung wurde gewählt, um Aufschluß über den möglicherweise unterschiedlichen Befall mit Mykobakterien bei den einzelnen Haltungsformen zu erhalten.

1. Durchführung der Kulturversuche

Die Untersuchungen erstreckten sich auf 835 Hühnerkotproben. Sie wurden nach der von B e e r w e r t h (5) beschriebenen Methode vorbehandelt.

Die aus der Kloake entnommenen Proben - jeweils etwa 1 g - wurden in einem großen Blutröhrchen mit etwa 10 ml 4 %iger NaOH versetzt und gut durchgemischt. Nach etwa 10 Minuten wurde die überstehende Flüssigkeit dekantiert und bei 3000 U.p.M. 15 Minuten lang zentrifugiert. Anschließend wurde der nach dem Abgießen verbleibende Bodensatz mit 10 ml 5 %iger Oxalsäure, der 0,1 % Malachitgrün zugefügt war, versetzt und mit einem Glasstab gut durchgemischt. Nach 15 Minuten Einwirkungszeit wurde weitere 15 Minuten bei 3000 U.p.M. zentrifugiert und anschließend das saure Sediment auf je 4 Nährbodenröhrchen ausgestrichen. Verwendung fand der Petragnani-Nährboden nach W i t t e (111) mit und ohne Glyzerin. Die glyzerinhaltigen Röhrchen wurden mit durchlöcherten Gummistopfen nach B a r t m a n n (3), die Röhrchen ohne Glyzerin mit nichtdurchlöcherten Gummistopfen verschlossen und 8 Wochen bei 37°C bebrütet.

2. Durchführung der Differenzierung

Eine größere Anzahl der isolierten Stämme wurde verschiedenen Differenzierungsverfahren unterworfen, und zwar der Prüfung der Hitzeresistenz bei 60°C, des Wachstums bei 47°C, bei Zimmertemperatur, auf gewöhnlichem Nähr- und Blut-Agar sowie in Lackmusmilch. Hinzu kamen die Amidaseproben nach Bönicke (8, 9, 10) sowie Bönicke und Lisboa (15) und Bönicke, Dittmar und Lisboa (12), die Prüfung des Farbstoffbildungsvermögens im Licht und im Dunkeln sowie Tierversuche mit Meerschweinchen, Hühnern und vereinzelt auch Kaninchen.

a) Prüfung der Hitzeresistenz bei 60°C

Einzelkolonien wurden dünn auf Petragnani Nährböden in der Modifikation nach Witte ausgestrichen und die Nährbodenröhrchen anschließend 4 Stunden lang bei 60° C im Wasserbad gehalten. Das Wachstum im Brutschrank wurde jeweils wöchentlich kontrolliert.

b) Prüfung des Wachstums bei 47°C

Die Bebrütung bei 47°C wurde im Brutschrank für etwa 3 Wochen auf Nährböden nach Witte vorgenommen.

c) Prüfung des Wachstums bei Zimmertemperatur

Die Bebrütung erfolgte für etwa 3 Wochen bei einer durchschnittlichen Raumtemperatur von 20°C.

d) Prüfung des Wachstums auf gewöhnlichem Nähr- und Blut-Agar

Jeder Stamm wurde auf normalem Nähr-Agar und Hammelblut-Agar mit 10 %igem Blutgehalt 1 Woche lang bebrütet und die Wachstumsstärke festgestellt.

e) Prüfung des Wachstums in Lackmusmilch

5 ml Lackmusmilch wurden mit einer großen Öse (ca. 5 mg) Bakterienmasse beimpft und bis zu 20 Tagen bebrütet. Prüfung auf Farb- und Konsistenzveränderung jeweils in dreitägigem Abstand.

f) Amidaseproben nach B ö n i c k e

Die Durchführung der Amidaseproben erfolgte nach dem Verfahren von B ö n i c k e (8, 9, 10). Die herangezüchteten Bakterienstämme wurden mit steriler Öse vom Nährboden abgehoben, homogenisiert und zur Entfernung des an den Bakterien haftenden Ammoniaks zweimal in der Zentrifuge bei 3000 U.p.M. gewaschen. Das Sediment wurde dann mit M/15 Phosphatpuffer vom pH 7,2 resuspendiert. Die Puffermenge wurde so gewählt, daß die Bakteriendichte 10 mg je 1 ml Puffer betrug.

Die Amide wurden in destilliertem Wasser in der Konzentration 0,00164 molar gelöst und danach eine halbe Stunde im Dampftopf bei 70°C erhitzt.

Je ein Teil der Amidlösungen wurde mit dem gleichen Volumen Bakteriensuspension durchgemischt und im Brutschrank bei 37°C für 24 Stunden gehalten. Nach 24 Stunden wurde je 1 ml entnommen und der Ammoniaknachweis durchgeführt. Dazu wurden je 1 ml Bakterien-Amid-Gemisch mit 0,1 ml $MnSO_4$-Lösung, 1 ml Phenolreagenz und 0,5 ml Hypochloritlösung vermischt und 15 - 20 Minuten auf 100°C erhitzt.

Die für den Ammoniaknachweis benötigten Reagenzien wurden wie folgt hergestellt:

a) Mangansulfatlösung 0,003 molar.

66,9 mg $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$ wurden in 100 ml aqua dest. gelöst.

b) Phenolreagenz

Zu 25 g Phenol wurden 10 ml aqua dest. gegeben, das Ganze kräftig durchschüttelt und 54 ml 5 NaOH-Lösung zugefügt und so lange geschüttelt, bis das Phenol völlig gelöst war. Mit aqua dest. wurde auf 100 ml aufgefüllt. Die Phenollösung wurde in brauner Flasche aufbewahrt.

c) Hypochloritlösung

25 g Chlorkalk wurden mit 300 ml heißem aqua dest. versetzt, unter Schütteln 135 ml 20 %ige, wässrige Kaliumkarbonatlösung zugefügt und danach zur Entfernung des möglicherweise vorhandenen Ammoniaks einige Minuten gekocht. Dann wurde mit aqua dest. auf 500 ml aufgefüllt und filtriert. Die fertigen Hypochlorit-Lösung wurde in brauner Flasche im Eisschrank aufbewahrt.

g) Prüfung des Farbstoffbildungsvermögens im Licht und im Dunkeln

Zur Prüfung des Farbstoffbildungsvermögens wurden von jedem Stamm je ein Röhrchen bei Licht und bei Lichtausschluß bebrütet. Die Farbstoffbildung wurde nach 6 Wochen beurteilt.

h) Tierversuche

Ein großer Teil der isolierten Stämme wurde im Tierversuch an Meerschweinchen, Hühnern und vereinzelt Kaninchen überprüft. Die Meerschweinchen erhielten je 1 mg Bakterienmasse subkutan in die Kniefalte, die Hühner ebenfalls 1 mg Bakterienmasse intravenös injiziert. Diese hohe Dosis wurde erforderlich, da bereits nach den Ergebnissen der grobsinnlichen Prüfung der Kulturen mit zahlreichen sogen. atypischen Mykobakterien zu rechnen war. Die Tiere wurden nach etwa 8 Wochen getötet und zerlegt.

II. Ergebnisse

1. Ergebnisse der Kulturversuche

Die Sicherheit der kulturellen Diagnostik und auch der erforderliche Materialaufwand bei der Mykobakterienzüchtung sind weitgehend von der Art des gewählten Vorbehandlungsverfahrens abhängig, besonders dann, wenn stark verunreinigte Proben wie Kotproben verarbeitet werden.

Tabelle I

Wirksamkeit des gewählten Vorbehandlungsverfahrens.

Betriebsform	Zahl der Kultur-versuche	Total-aus-fälle	Zahl der Nährböden-röhrchen	verunrei-nigte Einzel-röhrchen
Bäuerliche Kleinbetriebe	425	6 (1,4 %)	1700	94 (5,5%)
Großbetrieb mit ausschließ-licher Käfig-haltung	200	-	800	6 (0,7%)
Großbetrieb mit Bodenhaltung für Jungtiere und Käfighaltung für Legehennen	210	-	840	5 (0,6%)
insgesamt:	835	6 (0,7 %)	3340	105 (3,1%)

Die Vorbehandlung mit 4 %iger NaOH und 5 %iger Oxalsäure, der Malachitgrün in 0,1 %iger Konzentration zugefügt war, hat sich sehr gut bewährt. Insgesamt waren nur 6 Totalausfälle (0,7 %) bei 835 Kulturversuchen zu verzeichnen. Von 3340 Nährbodenröhrchen waren nur 105 (3,1 %) mit unspezifischen Keimen bewachsen.

Nach Abzug der 6 Totalausfälle verblieben zur Auswertung 829 Kulturversuche. In der folgenden Tabelle II sind nach der Betriebsart aufgeschlüsselt, die Zahl der positiven Kulturversuche, die Zahl der isolierten Mykobakterienstämme sowie das Ergebnis der Differenzierung zusammengefaßt.

Tabelle II

Ergebnisse der Kulturversuche mit 829 Kotproben.

Betriebsform	Zahl der Kot-proben	davon positiv	Zahl der Stämme	M. avium	andere Mykobakterien. Gruppen nach Runyon I	II	III	IV
Bäuerliche Kleinbetriebe	419	174 (41,5%)	219	11	-	150	27	31
Großbetrieb mit ausschließlicher Käfighaltung	200	14 (7,08%)	14	-	-	-	13	1
Großbetrieb mit Bodenhaltung für Jungtiere und Käfighaltung für Legehennen	210	44(20,9%)	46	-	-	6	37	3

Nach diesem Ergebnis waren von 419 aus Kleinbetrieben gezogenen Proben 174 (41,5 %) mit Mykobakterien behaftet. Die Zahl der isolierten Stämme betrug 219. Wesentlich geringer sind die positiven Kulturergebnisse in den beiden Großbetrieben. Bei reiner Käfighaltung waren von 200 Proben 14 (7,0 %) positiv. 14 Stämme wurden isoliert. Bei Bodenhaltung der Jungtiere und Käfighaltung der Legehennen waren von 210 Proben 44 (20,9 %) positiv. 46 verschiedene Stämme wurden gezüchtet.

Damit waren besonders in Kleinbetrieben wesentlich mehr Stämme als positive Kulturversuche zu verzeichnen. Häufig waren bei einem Kulturversuch 2 bis 3 verschiedene Mykobakterienarten zu finden.

Beachtlich ist die relativ hohe Zahl von 11 M. avium-Stämmen aus 5 von 19 Beständen. Die Diagnose wurde jeweils durch den Tierversuch an Meerschweinchen, Hühnern und einmal am Kaninchen erhärtet.

Damit liegt in den untersuchten bäuerlichen Kleinbetrieben der Befall mit Hühnertuberkulose erheblich höher als in den letzten Jahren nach den Sektionsergebnissen der hiesigen Untersuchungsämter angenommen werden konnte.

In den beiden Großbetrieben wurden aviäre Tuberkelbakterien nicht festgestellt. Beide Betriebe umfaßten jeweils mehr als 10000 Legehennen.

Sehr hoch ist die Zahl der isolierten atypischen Mykobakterien. Besonders häufig sind skotochrome Mykobakterien der Gruppe II nach R u n y o n. Nicht selten wurden auch nichtchromogene der Gruppe III und saprophytäre Mykobakterien der Gruppe IV festgestellt.

2.) <u>Ergebnisse der weiteren Differenzierung</u>

Die Differenzierungsergebnisse sind tabellarisch zusammengefaßt.
In den Tabellen findet sich als erstes jeweils das Wachstum auf Blutagar, dann folgen die Bestimmung der Hitzeresistenz bei 60°C, das Wachstum bei 47°C, das Wachstum bei 22°C und das Verhalten in Lackmusmilch. Diese klassischen Differenzierungsverfahren, die auch von M e y n und S t ö f f l e r (67) und L e b e k (54, 55) empfohlen werden, sind besonders zur Bestimmung von Mykobakterien der Gruppe IV nach R u n y o n von großer Wichtigkeit.

Es folgen dann die Amidaseproben nach B ö n i c k e und die Ergebnisse der Tierversuche. In den Spalten Meerschweinchen, Huhn und Kaninchen wird eine örtliche Reaktion mit oder ohne Beteiligung der regionären Lymph-

knoten durch +, eine generalisierte Tuberkulose durch ++ bezeichnet.

Tierversuche wurden mit sämtlichen aviären und nahezu allen Stämmen der Gruppe III nach R u n y o n angesetzt. Von den Gruppen II und IV wurde nur ein Teil der Stämme geprüft, um mögliche Mischinfektionen mit M. avium ausschließen zu können.

Die von B r ü h n (21) angewendeten weiteren Differenzierungsverfahren-Katalaseprobe, die Reduktionsproben mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC), Pikrinsäure und NO_3, die Resistenzbestimmungen gegenüber Streptomycin, Paraaminosalicylsäure (PAS) und Isonicotinsäurehydrazid (INH) sowie der Nachweis der Formamidase nach N a g a y a m a , K o n n o und O k a (77) wurden nicht eingesetzt. Sie hatten sich als nicht sonderlich geeignet zur Differenzierung der sog. atypischen Mykobakterien erwiesen.

Tabelle III Differenzierung von 11 Stämmen des M.avium.

Stamm Nr.	65	66	68	94	108	113	119	189	212	230	231
Wachstum auf Blutagar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hitzeresistenz 60° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Wachstum bei 47° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Wachstum bei 22° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lackmusmilch	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Benzamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Isonicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Malonamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meerschweinchen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Huhn	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kaninchen											+
Farbe und Wuchsform auf Witte-Nährböden nach 6 Wochen	grau-gelblich schmierig	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=

Erklärung für die Ergebnisse der Tierversuche:

+ bei Meerschweinchen: lokale Reaktion an der Impfstelle, mit oder ohne Beteiligung der korrespondierenden Lymphknoten.

++ bei Huhn und Kaninchen: generalisierte Tuber-

Zu Tabelle III

Der an letzter Stelle aufgeführte Stamm Nr. 231 war mit M. phlei verunreinigt. Er ließ sich auch aus dem Kaninchen, das unter den Erscheinungen einer septikämischen Tuberkulose (Typ Yersin) verendete, nicht rein züchten.

Die übrigen 10 Stämme stimmten in ihrem Verhalten in den wesentlichen Punkten überein. Sie waren nicht resistent gegenüber einer Temperatur von 60° C. 4 Stämme vermochten noch bei 47° C zu wachsen. Lackmusmilch wurde bis auf den Stamm 231 nicht verändert. Auf normalem Blutagar war bei 6 Stämmen nach 5 Tagen ein feines nur schwach sichtbares Wachstum festzustellen. Alle Stämme wuchsen auf Witte-Nährböden grau bis graugelb. Einzelne Stämme zeigten die bei Geflügeltuberkelbakterienkulturen häufigen kringelförmigen Kolonien. Die Amidaseproben fielen für das M. avium typisch aus. Es wurden regelmäßig nur Nicotinamid und Pyrazinamid gespalten. Auch die Tierversuche erbrachten die charakteristischen Ergebnisse. Die intravenös infizierten Hühner verendeten nach 3 bis 5 Wochen an hochgradiger Tuberkulose vom Typ Yersin (++). Das mit dem Stamm 231 infizierte Kaninchen starb nach 5 Wochen (Typ Yersin).

Bei 9 Meerschweinchen wurden örtliche Reaktionen an der Impfstelle festgestellt. Diese waren bei 6 Tieren mit einer Schwellung der korrespondierenden Lymphknoten vergesellschaftet.

Tabelle IV Differenzierung von 62 skotochromen Stämmen der Gruppe II nach R u n y o n .

Stamm Nr.	308	305	275	257	238	228	217	216	213	203	196	161	143	132	126	97	77	74	63	39	36	30	16	8
Wachstum auf Blutagar	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Hitzeresistenz 60° C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum bei 47° C	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
Wachstum bei 22° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lackmusmilch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isonicotinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nicotinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pyrazinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Succinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Meerschweinchen												+								-		-		
Huhn												-								-		-		
Kaninchen												-												
Farbe und Wuchsform auf Witte-Nährböden nach 6 Wochen	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
	braunrot schmierig																							

Tabelle IV (Fortsetzung) Differenzierung von 62 skotochromen Stämmen der Gruppe II nach R u n y o n .

Stamm Nr.	313	322	372	373	375	378	380	384	831	1	11	27	62	79	80	95	215	217	219	383
Wachstum auf Blutagar	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hitzeresistenz 60° C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum bei 47° C	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+
Wachstum bei 22° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lackmusmilch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isonicotinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nicotinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pyrazinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Succinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Meerschweinchen			+						-	-		-	-		-	-	-			-
Huhn			-						-	-		-	-		-	-	-			-
Kaninchen																				
Farbe und Wuchsform auf Witte-Nährböden nach 6 Wochen	braunrot schmierig	"	"	"	"	"	"	"	"	gelbrosa schmierig	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"

Tabelle IV (Fortsetzung) Differenzierung von 62 skotochromen Stämmen der Gruppe II nach R u n y o n .

Stamm Nr.	37	50	61	82	219	642	698	78	228	33	214	227	237	69	250	254	289	379
Wachstum auf Blutagar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	I	+	+	I	I	+	I	+	I
Hitzeresistenz 60° C	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Wachstum bei 47° C	+	I	I	I	+	I	+	+	I	+	+	I	+	I	+	I	I	I
Wachstum bei 22° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lackmusmilch	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Acetamid	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	+	I	+	I	+	+	I	I
Benzamid	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Harnstoff	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	+	I	+	+
Isonicotinamid	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Nicotinamid	I	I	I	I	I	I	I	I	I	+	I	I	I	I	I	I	I	I
Pyrazinamid	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	+	+	+	I	+	I	I	I
Salicylamid	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Allantoin	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Succinamid	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	+	I	I
Malonamid	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Meerschweinchen	I	I		I				I			I			I	I	I		
Huhn	I	I		I				I			I			I	I	I		
Kaninchen																		
Farbe und Wuchsform auf Witte-Nährböden nach 6 Wochen	gelbbraun schmierig	"	"	"	"	"	"	ziegelrot schmierig	"	braunrot schmierig	"	"	"	gelbrosa schmierig	"	"	"	"

Zu Tabelle IV

Von 156 Stämmen der Gruppe II nach R u n y o n wurden 62 einer näheren Differenzierung unterworfen. Lediglich 18 wurden auch im Tierversuch an Meerschweinchen und Hühnern, zwei auch an Kaninchen überprüft.

Von den 62 Stämmen wuchsen 13 innerhalb von 5 Tagen nicht auf Blutagar. Alle Stämme mit einer Ausnahme überstanden eine Erhitzung auf 60° C nicht. Wachstum bei 47° C zeigten 26 Stämme. Bei Zimmertemperatur wuchsen alle Stämme gleichmäßig, aber schwächer als bei 37° C. Lackmusmilch wurde nicht verändert. Lediglich 9 Stämme erwiesen sich als amidaseaktiv. Die in der Amidaseprobe erzielten Reaktionen waren durchweg nur schwach ausgeprägt. Es wurden gespalten:
Nicotinamid allein von einem Stamm,
Pyrazinamid allein von 2 Stämmen,
Harnstoff allein von 2 Stämmen,
Acetamid und Pyrazinamid von 2 Stämmen,
Acetamid und Harnstoff von einem Stamm,
Acetamid, Pyrazinamid und Succinamid von einem Stamm.

Allen Stämmen fehlte eine krankmachende Wirkung auf die Versuchstiere, lediglich bei 2 Meerschweinchen wurden Reaktionen an der Impfstelle mit Beteiligung der korrespondierenden Lymphknoten festgestellt. Die Hühner blieben gesund, bei der Zerlegung nach 6 bis 8 Wochen konnten keine pathologisch-anatomischen Veränderungen gefunden werden. Lediglich in Leber und Milz fanden sich bei der histologischen Untersuchung fast regelmäßig wenige submiliare Herde.

Auf Petragnani Nährböden nach Witte wurden vier verschiedene Farbvarianten festgestellt. Am häufigsten war eine braunrote Färbung, dann folgten gelbrosa, hellbraun und ziegelrot.

Die braunrote Farbtönung ist wesentlich häufiger als in dieser Tabelle zum Ausdruck kommt, da die große Masse der braunroten Stämme nicht weiter differenziert wurde.

Tabelle V Differenzierung von 71 nicht chromogenen Stämmen der Gruppe III nach R u n y o n.

Stamm Nr.	530	506	499	418	786	774	766	758	756	719	661	648	635	618	609	606	529	389	385	381	242	213	205	92	64	10
Wachstum auf Blutagar	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
Hitzeresistenz 60° C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum bei 47° C	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Wachstum bei 22° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lackmusmilch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isonicotinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nicotinamid	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Succinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Meerschweinchen					-		+	+		+				-	+		+	-		-	+		-	-	+	-
Huhn					-		-	-		-				-	-		-	-		-	-		-	-	-	-
Kaninchen					-		-							-			-									
Farbe und Wuchsform auf Witte-Nährböden nach 6 Wochen	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	graugelb schmierig
	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=

Tabelle V (Fortsetzung) Differenzierung von 71 nicht chromogenen Stämmen der Gruppe III nach Kunyon.

302	301	285	272	267	116	110	828	807	794	787	783	771	749	745	744	674	659	649	629	627	608	605	587	Stamm Nr.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Wachstum auf Blutagar
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Hitzeresistenz 60° C
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Wachstum bei 47° C
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Wachstum bei 22° C
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Lackmusmilch
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Acetamid
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Benzamid
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Harnstoff
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Isonicotinamid
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Nicotinamid
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Pyrazinamid
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Salicylamid
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Allantoin
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Succinamid
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Malonamid
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Meerschweinchen
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Huhn
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Kaninchen
graugelb																								Farbe und Wuchsform auf Witte-Nährböden nach 6 Wochen
schmierig																								

Tabelle V (Fortsetzung) Differenzierung von 71 nicht chromogenen Stämmen der Gruppe III nach R u n y o n .

819	796	768	746	742	713	711	708	705	673	670	660	654	653	651	626	622	614	576	569	361	Stamm Nr.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Wachstum auf Blutagar
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Hitzeresistenz 60° C
-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Wachstum bei 47° C
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Wachstum bei 22° C
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Lackmusmilch
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Acetamid
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Benzamid
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Harnstoff
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Isonicotinamid
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Nicotinamid
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pyrazinamid
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Salicylamid
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Allantoin
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Succinamid
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Malonamid
+				+		+	+		-								-				Meerschweinchen
-				-		-	-		-								-				Huhn
							-		-								-				Kaninchen
=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	graugelb schmierig	Farbe und Wuchsform auf Witte-Nährböden nach 6 Wochen

Zu Tabelle V

Den Stämmen der Gruppe III nach R u n y o n wurde besondere Aufmerksamkeit gewidmet wegen der notwendigen Abgrenzung gegenüber M. avium. Von 77 isolierten Stämmen wurden 71 weiter differenziert.

Sie verhielten sich auf Witte Nährböden einheitlich und wuchsen relativ langsam ohne Pigmentbildung. Auf Blutagar zeigte die Mehrzahl der Stämme nach 5 Tagen ein feines Wachstum, das z.T. nur bei Lupenbetrachtung deutlich sichtbar wurde. Keiner der 71 Stämme war resistent gegenüber der Erhitzung auf 60° C für 4 Stunden. Nur 10 Stämme wuchsen bei 47° C. Wie nahezu alle Mykobakterienarten zeigten auch die Stämme der Gruppe III bei 22° C zwar verzögertes, doch deutliches Wachstum. Lackmusmilch wurde nicht verändert.

Von besonderem Interesse war das Verhalten in den Amidaseproben nach B ö n i c k e . 22 Stämme zeigten die für die Gruppe III typische Spaltung von Nicotinamid und Pyrazinamid. Weitere 21 Stämme zerlegten lediglich Pyrazinamid. Bei den restlichen 28 Stämmen konnte keine Amidaseaktivität festgestellt werden.

32 Tierversuche sollten zur Prüfung auf Pathogenität dienen. Bei 16 Meerschweinchen ließen sich örtliche Reaktionen an der Impfstelle mit Schwellung der korrespondierenden Lymphknoten feststellen. Sämtliche Hühner und Kaninchen überlebten bei gutem Allgemeinzustand die Versuchsdauer von 8 Wochen. Sie zeigten lediglich im histologischen Bild submiliare Herdchen in der Leber und in der Milz.

Tabelle VI Differenzierung von 34 Stämmen der Gruppe IV nach R u n y o n .

Stamm Nr.	226	457	387	382	328	310	252	250	245	244	231	213	205	201	199	147	138	136	122	103	46	29	28
Wachstum auf Blutagar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hitzeresistenz 60° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Wachstum bei 47° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Wachstum bei 22° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lackmusmilch	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Acetamid	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Isonicotinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Succinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Meerschweinchen			-	-	-		-	-					-	-		-			-	-	-	-	-
Huhn			-	-	-			-					-	-		-			-	-	-	-	-
Kaninchen							-	-															
Farbe auf Witte-Nährböden	gelbbraun	gelblich	graugelb	gelbrosa	braunrot	graugelb	graugelb	graugelb	grau	graugelb	hellbraun	gelblich	gelblich	graugelb	graurosa	hellbraun	graugelb	graugelb	gelblich	gelblich	graugelb	gelb	graugelb	gelblich
Diagnose	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	M. phlei

Tabelle VI (Fortsetzung) Differenzierung von 34 Stämmen der Gruppe IV nach R u n y o n .

Stamm Nr.	70	315	139	133	143	163	164	274	804	246	260
Wachstum auf Blutagar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hitzeresistenz 60° C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum bei 47° C	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum bei 22° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lackmusmilch	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
Acetamid	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Benzamid	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Isonicotinamid	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Meerschweinchen	-		-								
Huhn	-		-								
Kaninchen											
Farbe auf Witte-Nährböden	graugelb	hellgelb	graugelb	grauweiß	grau	grau	graugelb	graugelb	grau	graugelb	grau
Diagnose	M.smegmatis	" vaccae	M.diernhoferi	M.fortuitum	"	"	"	"	"	M.thamnopheos	"

Zu Tabelle VI

Von 35 Stämmen der Gruppe IV nach R u n y o n wurden 34 näher untersucht. Für die Artbestimmung waren die Hitzeresistenz bei 60°C das Wachstum auf Blutagar, das Wachstum bei 47° , das Verhalten in Lackmusmilch und vor allem die Amidaseproben nach B ö n i c k e von Wichtigkeit. Auf Blutagar wuchsen alle Stämme üppig innerhalb von 24 - 48 Stunden.

Die 23 Stämme des M. phlei waren resistent gegenüber einer Erhitzung auf 60°C. Sie gediehen gut bei 47°C ebenso bei Zimmertemperatur. Sie färbten mit einigen Ausnahmen die Lackmusmilch innerhalb von 10 Tagen blau. Das Verhalten in den Amidaseproben nach B ö n i c k e war charakteristisch. Innerhalb von 24 Stunden wurden von 11 Stämmen Harnstoff, Nicotinamid und Pyrazinamid gespalten. 8 Stämme zerlegten Acetamid, Harnstoff, Nicotinamid und Pyrazinamid. Vier Stämme verhielten sich atypisch. Einer spaltete Acetamid, Nicotinamid und Pyrazinamid, ein zweiter Acetamid, Harnstoff und Pyrazinamid, ein dritter Acetamid und Harnstoff, ein vierter lediglich Harnstoff. 13 Tierversuche verliefen negativ.

M. smegmatis konnte nur einmal festgestellt werden. Es wuchs sehr gut auf Blutagar, war nicht resistent gegenüber einer Erhitzung auf 60°C, zeigte bei 47°C und 22°C mäßiges bzw. gutes Wachstum. Die Lackmusmilch färbte sich innerhalb von 14 Tagen blau. Benzamid, Harnstoff, Isonicotinamid, Nicotinamid, Pyrazinamid und Succinamid wurden gespalten. Die Tierversuche mit einem Meerschweinchen und einem Huhn verliefen negativ.

Das von B ö n i c k e und J u h a s z (13) erstmals beschriebene M. vaccae konnte einmal ermittelt werden. Es gedieh gut auf Blutagar, war nicht resistent gegenüber einer Erhitzung auf 60°C, wuchs nicht bei 47°C, dagegen gut bei 22°C. Lackmusmilch wurde innerhalb von 14 Tagen blau gefärbt. Benzamid, Harnstoff, Isonicotinamid, Nicotinamid, Pyrazinamid und Allantoin wurden zerlegt. Das Wachstum war hellgelb und schmierig.

Ein weiterer Stamm wurde als M. diernhoferi (B ö n i c k e und J u h a s z (14)) eingeordnet. Es wuchs gut auf Blutagar, vertrug eine Erhitzung auf 60°C nicht und wuchs nicht bei 47°C, dagegen gut bei 22°C. Lackmusmilch wurde innerhalb von 14 Tagen blau gefärbt. Harnstoff, Nicotinamid und Pyrazinamid wurden gespalten. Das Wachstum auf Petragnani Nährböden nach Witte war graugelb und schmierig.

Relativ häufig war mit 6 Stämmen das M. fortuitum. Es wuchs gut auf Blutagar, war nicht resistent gegenüber einer Erhitzung auf 60°C , wuchs nicht bei 47°C, dagegen sehr gut bei 22°C. Die Lackmusmilch wurde von einem Stamm innerhalb von 3 Wochen blau gefärbt. 2 Stämme zerlegten Acetamid, Harnstoff, Nicotinamid, Pyrazinamid und Allantoin. 3 Stämme spalteten Harnstoff, Nicotinamid, Pyrazinamid und Allantoin. Ein Stamm zerlegte lediglich Acetamid, Harnstoff und Allantoin. Tierversuche wurden nicht durchgeführt. Das Wachstum auf Witte-Nährböden war grau, grauweiß bis graugelb und schmierig.

Als M. thamnopheos ließen sich 2 Stämme bestimmen. Beide Stämme wuchsen gut auf Blutagar, waren nicht resistent gegenüber einer Erhitzung auf 60°C, sie wuchsen nicht bei 47°C, dagegen sehr gut bei 22°C. Lackmusmilch wurde von beiden Stämmen blau gefärbt. Beide Stämme zerlegten Harnstoff und Allantoin, ein Stamm vermochte auch Pyrazinamid geringfügig anzugreifen. Das Wachstum eines Stammes war graugelb, schmierig, der andere zeigte eine ausgesprochene Graufärbung. Tierversuche wurden nicht durchgeführt.

D. Besprechung der Ergebnisse

Das von Beerwerth (5) ausgearbeitete Verfahren zur Vorbehandlung stark verunreinigten Materials hat sich auch bei der Untersuchung von Geflügelkotproben auf Mykobakterien gut bewährt. Von 835 Kulturversuchen fielen 6 (0,7 %) total aus, von 3340 Einzelröhrchen waren 105 (3,1 %) verunreinigt.

Insgesamt ließen sich aus 232 (28,0 %) von 829 Kotproben verschiedene Mykobakterien isolieren. Damit sind Mykobakterien im Geflügelkot recht häufig anzutreffen. Im Schrifttum sind bisher einschlägige Angaben nicht aufgeführt.

Die Dichte des Wachstums war recht unterschiedlich. Sie schwankte von Einzelkolonien bis zu ausgeprägter Rasenbildung. Nicht selten wurden 2 bis 3 verschiedene Arten auf einem Nährbodenröhrchen festgestellt. So ließen sich insgesamt 279 verschiedene Mykobakterienstämme züchten. Bei der Reinzüchtung der auf einem Nährboden gleichzeitig wachsenden verschiedenen Arten waren, wie auch Beerwerth (5) betont, häufig erhebliche Schwierigkeiten zu überwinden. Die Reinzüchtung gelang in zahlreichen Fällen nicht.

Unter den 279 gezüchteten Stämmen war 11 mal das M. avium vertreten. Von 268 sogenannten atypischen Stämmen gehörten 156 zur Gruppe II, 77 zur Gruppe III und 35 zur Gruppe IV nach Runyon.

Besonderes Interesse verdienen die 11 Stämme des M. avium. Sie wurden in 5 von 19 bäuerlichen Kleinbetrieben aus 3 verschiedenen Gemeinden gefunden. Alle 11 Stämme zeigten das charakteristische Wachstum, waren hochpathogen für Versuchshühner und nicht oder nur wenig pathogen für Meerschweinchen. Sie spalteten in den Amidaseproben nach Bönicke (8, 9, 10), Bönicke und Lisboa (15) und Bönicke, Dittmar und Lisboa (12) Nicotinamid und Pyrazinamid, zeigten also die typenspezifischen Eigenschaften. Die Feststellung des M. avium in etwa einem Viertel unserer

bäuerlichen Geflügelhaltungen steht in einem gewissen Widerspruch zu den in den letzten Jahren seltenen Tuberkulosebefunden bei Geflügelsektionen. So wurde im Veterinäruntersuchungsamt Münster in den letzten 10 Jahren bei der Zerlegung von 36016 Hühnern nur zu 0,3 % Tuberkulose gefunden. Diese Diskrepanz erklärt sich aus der Herkunft des Untersuchungsmaterials. Schon seit vielen Jahren werden nahezu ausschließlich Hühner aus größeren Wirtschaftsgeflügelbeständen untersucht. Für die Besitzer extensiv genutzter Kleinbetriebe besteht, wie auch Hartwigk (37) betont, wegen des geringen Wertes der gewöhnlich schon an sich unwirtschaftlichen Tiere kein Anreiz zur Bekämpfung von Krankheiten.

Die relativ häufige Feststellung des M. avium war etwas überraschend. Sie zeigt, daß entgegen der allgemeinen Ansicht die besonders in Süddeutschland von Nassal (69, 74), Nassal und Muser (75, 76), Schließer und Berger (94), Drawer (28) sowie Schließer (92) gemachten Feststellungen über Vorkommen und Verbreitung der Geflügeltuberkulose wohl zumindest stellenweise auch für die kleinbäuerlichen Bestände Norddeutschlands zutreffen.

Das offenbar häufige Vorkommen der Geflügeltuberkulose beeinflußt auch entsprechend das Auftreten unspezifischer Tuberkulinreaktionen bei Rindern, wie die zahlreichen einschlägigen Untersuchungsergebnisse beweisen (Nassal (70, 71, 74), Nassal und Muser (76), Schaaf und Beerwerth (89)).

Der kausale Zusammenhang mit der heute fast ausschließlich auf das M. avium zurückzuführenden Schweinetuberkulose ist offensichtlich, wenn auch nach neueren Untersuchungen von Meyn und Schließer (66), Zunker (113), Schließer (92), Brehmer (20), Kauker und Zettl (45) sowie Beerwerth (5) auch mit einer gelegentlichen Infektion durch in der Außenwelt saprophytär vorkommende Stämme des M. avium gerechnet werden muß. Auch die Übertragung von Schwein zu Schwein muß nach Beerwerth (5) als gesichert erscheinen.

Die Züchtung von M. avium aus Hühnerkotproben kann nach den Ergebnissen dieser Arbeit wesentlich der Ermittlung des Verseuchungsgrades unserer Hühnerbestände dienen. Sie kann sicherlich auch zur Deutung unspezifischer Tuberkulinreaktionen bei Rindern beitragen und wirksam zur Klärung der Epizootologie der Schweinetuberkulose eingesetzt werden. Der Vorteil des direkten Erregernachweises wiegt den Nachteil eines größeren Arbeits- und Zeitaufwandes voll auf, zumal Untersuchungsverfahren auf allergischer und serologischer Basis derzeit noch recht widersprechend beurteilt werden.

Für die vorläufige Klassifizierung der in großer Zahl (268 Stämme) gezüchteten sogenannten "atypischen" und saprophytären Mykobakterien wurde die Einteilung nach Runyon (87) gewählt. Sie hat sich, wie auch Freerksen (32) feststellt, als gutes Hilfsmittel erwiesen. Voll befriedigen kann sie allerdings nach Lebek (54, 55), Brühn (21) und Beerwerth (5) nicht, da Wachstumsgeschwindigkeit und Farbstoffbildung von zahlreichen Faktoren, wie Art und Qualität des Nährbodens, Bebrütungstemperatur und Luftzutritt abhängig sind. Besonders ein Teil der skotochromen Stämme wurde wegen verzögerter Farbstoffbildung anfangs fälschlich der Gruppe III zugeordnet. Es hat sich darum als zweckmäßig erwiesen, die Kulturen bis zur Endbeurteilung einige Wochen zu bebrüten.

Vier verschiedene Farbtonungen wurden festgestellt, sehr häufig dunkelbraunrot, weniger häufig gelbrosa, gelbbraun und ziegelrot. Zwischentone waren nicht selten. Langere Bebrütung der Primär- und Subkulturen führte zur Intensivierung.

Die Stämme der Gruppe III wuchsen langsamer und waren nicht pigmentiert. Ihnen wurde bei der weiteren Differenzierung besondere Beachtung geschenkt.

Gut zu erkennen waren wegen ihres schnellen und starken Wachstums die Stämme der Gruppe IV.

Mykobakterien der Gruppe I wurden nicht festgestellt. Auch B e e r w e r t h (5) konnte sie bei der Untersuchung von 1130 Säugetierkotproben nicht zuchten.

Erhebliche Unterschiede bestanden zwischen den 19 Kleinbetrieben und den 2 großen Beständen hinsichtlich Zahl und Art der gezüchteten Stämme. In 419 Proben aus Kleinbetrieben fanden sich neben 11 Stämmen des M. avium 150 der Gruppe II, 27 der Gruppe III und 31 der Gruppe IV nach R u n y o n.

Ähnliche Werte für das Verhältnis der einzelnen Gruppen nach R u n y o n stellten auch K a p p l e r (44) bei menschlichen Material und B e e r w e r t h (5) bei Säugetierkotproben fest.

In den beiden Großbetrieben mit insgesamt 410 Proben wurden 60 Stämme ermittelt. Hier überwog die Gruppe III mit 50 Stämmen. Die Gruppen II und IV waren nur schwach vertreten.

Dieses Ergebnis zeigt, daß Tiere in Kleinbetrieben mit Auslauf offenbar in erheblichem Maße Mykobakterien der verschiedensten Arten aufnehmen können. In neuerer Zeit weisen besonders S c h l i e ß e r (93) sowie S o b i e c h und W a c h n i k (97) auf das häufige Vorkommen von Mykobakterien in der Außenwelt hin.

Auffallend ist die geringere Zahl der Mykobakterienfunde (60 Stämme) in den beiden Großbetrieben mit Käfighaltung der Legehennen und die fast vollständige Gleichartigkeit der gezüchteten Stämme. Hier ist sicherlich eine geringere

Möglichkeit zur Aufnahme von Mykobakterien gegeben. Auch die völlig gleichmäßige Fütterung - ausschließlich Legemehl - dürfte von Einfluß sein.

Besonders bemerkenswert ist in Klein- und Großbetrieben das häufige Vorkommen von Mykobakterien der Gruppe III, die auch die "Battey" - und die sogenannten "avium-ähnlichen" Stämme umfaßt. Letztere werden nach Meissner (61) besser als aviäre Mykobakterien mit geringerer Virulenz bezeichnet. Nicht wenige Mykobakterien der Gruppe III wurden in den letzten Jahren als Krankheitserreger bei Mensch und Tier festgestellt. Ihr Vorkommen in allen im Rahmen dieser Arbeit geprüften Geflügelbeständen und zwar in Betrieben mit und ohne Tuberkulose zeigt, daß sie, wie auch Beerwerth (5) hervorhebt, in der Außenwelt recht häufig sind. Ihre epizootologische Bedeutung bedarf besonders auch im Zusammenhang mit der in den letzten Jahren diskutierten Typenumwandlung der Mykobakterien (Nassal (72), Hartwigk und Stottmeier (38)) unbedingt weiterer Klärung. Falls es sich bei diesen Stämmen lediglich um aviäre Mykobakterien geringerer Virulenz handeln sollte, dürfte eine Bekämpfung und Tilgung der Geflügeltuberkulose unmöglich sein.

Von den 279 gezüchteten Stämmen wurden 172 einer näheren Untersuchung unterzogen. Im einzelnen wurden geprüft: Das Wachstum auf gewöhnlichen Nährböden, die Hitzeresistenz bei 60°C für 4 Stunden, das Wachstum bei 47°C und 22°C, das Verhalten in Lackmusmilch und in der Amidreihe nach Bönicke (8, 9, 10), Bönicke und Lisboa (15) und Bönicke, Dittmar und Lisboa (12). Tierversuche mit Meerschweinchen, Hühnern und vereinzelt auch Kaninchen wurden mit 75 Stämmen angestellt.

Auf einige Untersuchungsverfahren, die sich nach Brühn (21) als wenig geeignet für die Bestimmung von "atypischen" Mykobakterien erwiesen, wurde verzichtet; so auf die Katalaseprobe, die Bestimmung der Resistenz gegenüber Streptomycin, Paraaminosalicylsäure und Isoni-

kotinsäurehydrazid. Auch die Reduktionsproben mit NO_3, Pikrinsäure und Triphenyltetrazoliumchlorid wurden nicht eingesetzt. Diese Proben eignen sich nach Kazda und Hampl (46) sowie Brühn (21) besser zur Differenzierung pathogener Arten.

Die kritische Beurteilung der im einzelnen angewandten Untersuchungsmethoden stimmt im ganzen mit der von Brühn (21) gegebenen Wertung überein. Sie eigneten sich besonders gut zur Artbestimmung von Mykobakterien der Gruppe IV nach Runyon. Die Hitzeresistenzprobe bei 60°C, die Bebrütung bei 47°C, die Züchtung auf gewöhnlichen Nährböden und in Lackmusmilch nach den Vorschlägen von Meyn und Stöffler (67), Nestle (78) und Lebek (54, 55) ermöglichten in Verbindung mit den Amidaseproben nach Bönicke (8, 9, 10), Bönicke und Lisboa (15) und Bönicke, Dittmar und Lisboa (12) eine recht sichere Abgrenzung der einzelnen Arten. Tierversuche vermögen lediglich die gleichzeitige Anwesenheit von pathogenen Stämmen auszuschließen. Sie führen bei einer Infektion mit Stämmen der Gruppen II, III und IV bei Meerschweinchen gelegentlich zu einer örtlichen Reaktion an der Impfstelle. Intravenös infizierte Hühner und Kaninchen lassen im histologischen Schnitt mehr oder weniger zahlreiche, grobsinnlich nicht sichtbare submiliare Tuberkel in Leber und Milz erkennen.

Zur näheren Bestimmung von Stämmen der Gruppe II nach Runyon vermögen die einzelnen Differenzierungsmethoden kaum beizutragen. Stämme dieser Gruppe sind gegenüber 60°C nicht resistent, sie wachsen schwach auf gewöhnlichen Nährböden und zum Teil noch gut bei 47°C. Lackmusmilch wird nicht verändert, die Amide der Versuchsreihe nach Bönicke werden im allgemeinen nicht gespalten. Werden einzelne Amide angegriffen, so sind die Reaktionen nur schwach ausgeprägt.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei den in dieser Arbeit nicht selten festgestellten Stämmen der Gruppe III.

Sie sind nicht resistent gegenüber 60°C, wachsen zum Teil nicht bei 47°C, aber alle bei Zimmertemperatur. Lackmusmilch wird nicht verändert. Typisch erscheint bei einem beträchtlichen Teil der Stämme das Verhalten in der Amidreihe nach B ö n i c k e. 22 von 71 Stämmen spalteten wie das M. avium Nikotinamid und Pyrazinamid, 21 nur Pyrazinamid, 28 Stämme zerlegten keines der geprüften Amide.

E. Zusammenfassung

1. 835 Hühnerkotproben wurden unter Einsatz des Vorbehandlungsverfahrens nach B e e r w e r t h (5) mit kombinierter Verwendung von 4 %iger Natronlauge und 5 %iger Oxalsäure untersucht. 425 Proben stammten aus bäuerlichen Kleinbetrieben, 200 aus einem Großbetrieb mit ausschließlicher Käfighaltung, 210 aus einem Großbetrieb mit Käfighaltung der Legehennen und Bodenhaltung der Jungtiere.

2. Das angewandte Vorbehandlungsverfahren hat sich auch zur Züchtung von Mykobakterien aus Hühnerkot bewährt. Lediglich 6 (0,7 %) Kulturversuche fielen wegen Verunreinigung total aus. Von 3340 Nährbodenröhrchen waren 105 (3,1 %) mit Begleitkeimen verunreinigt.

3. Mykobakterien wurden in 232 (28,0 %) von 829 Proben festgestellt. In 19 Proben waren 2 oder 3 Stämme gleichzeitig vorhanden.

4. Die Untersuchung von Kotproben vermag zur Feststellung der Geflügeltuberkulose wesentlich beizutragen. Von 279 Stämmen erwiesen sich 11 als M. avium. Sie wurden in 5 von 19 extensiv genutzten bäuerlichen Geflügelhaltungen aus 3 Gemeinden festgestellt. Auch in Nordwestdeutschland kann bei herkömmlicher, extensiver Haltung zumindest stellenweise mit einer erheblichen Verbreitung von aviären Tuberkelbakterien gerechnet werden. Die relativ häufige Schweinetuberkulose, sowie auch das Auftreten unspezifischer Tuberkulin-

reaktionen mit aviärem Reaktionsbild bei Rindern können als Bestätigung dieser Befunde gewertet werden.

5. Von 419 Kotproben aus extensiven Kleinbeständen enthielten 174 (41,5 %) Mykobakterien. Aus 200 Proben eines Bestandes mit ausschließlicher intensiver Käfighaltung wurden 14 mal (7 %) Mykobakterien isoliert. Von 210 Proben eines Bestandes mit intensiver Käfighaltung der Legehennen und vorangegangener Bodenhaltung der Jungtiere waren 44 (20,9 %) mit Mykobakterien behaftet.

6. Von 268 atypischen oder nicht klassifizierten Stämmen gehörten 156 zur Gruppe II, 77 zur Gruppe III und 35 zur Gruppe IV nach R u n y o n .

7. Zur weiteren Differenzierung bewährten sich die Prüfung der Hitzeresistenz bei 60°C, die Züchtung bei 47°C und auf gewöhnlichen Nährböden sowie in Lackmusmilch. Die Amidaseproben nach B ö n i c k e vermögen die nähere Bestimmung der Arten entscheidend zu fördern.

F.) Schriftumsverzeichnis

1.) Albert, O.H.:
Untersuchungen über das Vorkommen von Mykobakterien im Rinderkot und deren Differenzierung.
Vet.med.Diss. Gießen (1955)

2.) Arand, F.:
Zur Frage der Differenzierung von Geflügeltuberkelbakterien im Hühnerinfektionsversuch.
Mhefte Vet.med. 12, 266 (1957)

3.) Bartmann, K.:
Ein luftdurchlässiger und feuchtigkeitbewahrender Verschluß zur Züchtung von Tuberkelbakterien.
Zbl. Bakt. I Orig. 170, 615 (1957)

4.) Becker, L.:
Ein Beitrag zur Statistik der Geflügelkrankheiten.
Mhefte Vet.med. 9, 431 (1954)

5.) Beerwerth, W.:
Die Züchtung von Mykobakterien aus dem Kot der Haustiere und ihre Bedeutung für die Epidemiologie der Tuberkulose.
Prax. Pneumol. 21, 189 (1967)

6.) Bergey's Manual of Determinative Bacteriologie.
Verlag Bailliere, Tindall und Cox, London
7. Aufl. 695 (1957)

7.) B e r e n c s i, G. und J. S z a b o:
Über ein spezielles Problem der Tuberkulose. Hühner als Ausscheider von Mykobakterien.
Zbl. Bakt. I Orig. 192, 477 (1964)

8.) B ö n i c k e, R.:
Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mykobakterien. III. Mitteilung
Zbl. Bakt. I Orig. 178, 186 (1960)

9.) B ö n i c k e, R.:
Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mykobakterien. IV. Mitteilung
Zbl. Bakt. I Orig. 179, 209 (1960)

10.) B ö n i c k e, R.:
Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mykobakterien. V. Mitteilung
Zbl. Bakt. I Orig. 179, 223 (1960)

11.) B ö n i c k e, R.:
Enzymatische Leistungen in vitro und in vivo gewachsener Mykobakterien.
Kolloquium Borstel 1963
Zbl. Bakt. I Ref. 194, 5 (1964)

12.) B ö n i c k e, R., W. D i t t m a r und B.P. L i s b o a:
Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mykobakterien. II. Mitteilung
Zbl. Bakt. I Orig. 177, 380 (1960)

13.) B ö n i c k e, R. und S.E. J u h a s z:
Beschreibung der neuen Spezies Mycobakterium vaccae n. sp.
Zbl. Bakt. I Orig. 192, 133 (1964)

14.) B ö n i c k e, R. und S.E. J u h a s z:
Mycobakterium diernhoferi n. sp., eine in der Umgebung des Rindes häufig vorkommende neue Mycobakterium - Species.
Zbl. Bakt. I Orig. 197, 292 (1965)

15.) B ö n i c k e, R. und B.P. L i s b o a:
Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mykobakterien. I. Mitteilung
Zbl. Bakt. I Orig. 175, 403 (1959)

16.) B o i s v e r t, H.:
L'identification des mycobactéries par la recherche de l'acide nicotinique.
Ann.Inst. Pasteur 99, 600 (1960)

17.) B o j a l i l, L.F.:
Frequency and epidemiologic significance of unclassified Mycobacteria in Mexico.
Amer.Rev. Resp. Dis. 83, 596 (1961)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 185, 18 (1962)

18.) B o j a l i l, L.F. und J. C e r b o n:
A comparative study of non photochromogenic Mycobacteria and Mycobacterium avium.
Amer. Rev. Resp. Dis. 81, 382 (1960)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 181, 36 (1961)

19.) B o j a l i l, L.F., J. C e r b o n und A. T r u j i l l o:
Adansonian classification of mycobacteria.
J. Gen. Microbiol 28, 333 (1962)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 188, 131 (1963)

20.) B r e h m e r, W.:
Die Bedeutung des Mycobacterium avium für den Menschen.
Bundesgesundheitsbl. 7, 209 (1964)

21.) B r ü h n, A.:
Differenzierung aus dem Rinderkot isolierter Mykobakterien.
Vet.med. Diss. FU Berlin (1966)

22.) B u g g e, G. und W. K i e s i g:
Über säurefeste Bazillen an Runkelrüben.
Dtsch.tierärztl. Wschr. 27, 231, 243 (1919)

23.) B u r g i s s e r, H. und P.A. S c h n e i d e r:
Fehlgeburt als Folge einer Infektion mit Tuberkulose (Geflügeltyp) bei einer Kuh.
Schweiz.Arch. Tierhk. 99, 257 (1957)

24.) B u s s, W.: Besteht die Möglichkeit der bakterioskopischen Unterscheidung von Tuberkelbakterien und apathogenen Mykobakterien?
Lebensmitteltierarzt 4, 270 (1953)

25.) B u t l e r, R.W. und J.E. J o s e p h s o n:
Unclassified mycobacteria from human suspect tuberculosis cases in Newfoundland.
Canad.Med.Ass.J. 88, 347 (1963)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 197, 218 (1965)

26.) C r o w, H.E. u.a.:
A limited clinical, pathologic and epidemiologic study of patients with pulmonary lesions associated with atypical acid fast bacilli in the sputum.
Amer.Rev. Tbc. 75, 199 (1957)

27.) D e u t s c h, J.:
Über einen Fall von Geflügeltuberkulose beim Menschen.
Med.Klin. Nr. 50 (1925)
Ref. in: Dtsch.tierärtzl. Wschr. 35, 156 (1927)

28.) D r a w e r, K.:
Untersuchungen über die Verbreitung der Geflügeltuberkulose in bäuerlichen Betrieben des Kreises Bad-Kreuznach.
Mhefte Tierhk. 14, Sonderteil Rindertuberkulose und Brucellose 11, 64 (1962)

29.) E b e r, A. und A. P a l l a s k e - E b e r:
Die durch Obduktion feststellbaren Geflügelkrankheiten.
Verl. M.u.H. Schaper Hannover
1. Aufl. (1934)

30.) E i c h b a u m, F.:
Die tuberkelbazillenähnlichen, säurefesten Saprophyten.
Erg. Hyg. 14, 82 (1933)

31.) F e o k t i s s t o w, P.J.:
Tuberkules ptiz i meri bordi c nim.
Ptizewostwo, Moskwa 5, 34 (1955)
Ref. in: Landw. Zbl. Abt. IV, 3, 1122 (1958)

32.) F r e e r k s e n, E.:
Die sogenannten atypischen Mykobakterien.
Klin.Wschr. 38, 297 (1960)

33.) F r i t z e, K. zit. nach H. T h i e r i n g e r:
Über den Nachweis von Tuberkelbazillen im Kot von Rindern.
Arb.Gesd.amt, Berlin 43, 545 (1913)

34.) G a s i s, D.:
Über eine neue Raktion der Tuberkelbazillen und eine darauf begründete differential diagnostische Färbungsmethode derselben.
Zbl. Bakt. I Orig. 50, 111 (1909)

35.) G e r b e a u x, J. u.a.:
Manifestations parotidiennes au cours de l'évolution des adénites paratuberculeuses.
Press.méd. 72, 1781 (1964)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 197, 219 (1965)

36.) H a a g, F.E.:
Die saprophytischen Mykobakterien.
Zbl. Bakt. II, 71, 1 (1927)

37.) H a r t w i g k, H.:
Infektionen bei Tieren durch aviäre Mykobakterien.
Prax. Pneumol. 19, 537 (1965)

38.) H a r t w i g k, H. und D. S t o t t m e i e r:
Über die Variabilität von Mykobakterien.
Zbl. Bakt. I Orig. 189, 430 (1963)

39.) H e r t e r, W.:
Beitrag zur Statistik der Hühnerkrankheiten nebst einigen kritischen Betrachtungen.
Tierärztl. Umschau 6, 22 (1951)

40.) H e r r, W.:
Ein Beitrag zur Verbreitung der säurefesten Bazillen.
Zschr. Hyg. 38, 201 (1901)

41.) H u m m e l, P.:
Über das Vorkommen von atypischen Mykobakterien bei Hund und Katze.
Zbl. Vet. med. Reihe B 13, 51 (1966)

42.) K ä p p l e r, W.:
"Atypische" Mycobakterien.
Wiss.Zeitg. Karl Marx Univ. Leipzig, math. naturwiss. R. 11, 720 (1962)

43.) K ä p p l e r, W.:
Freie Vorträge über den Nachweis von Mycobacterium avium und Mycobakterium avium - ähnlichen Stämmen beim Menschen.
Zschr. Tbk. 122, 198 (1964)

44.) K ä pp l e r, W.:
Disskussionsbemerkung
Zbl. Bakt. I Orig. 184, 56 (1962)

45.) K a u k e r, E. und K. Z e t t l:
Beitrag zur käsigen Lymphknotenentzündung der Schweine.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 77, 167 (1964)

46.) K a z d a, J. und J. H a m p l:
Über den Nachweis einiger Reduktasen zur Differenzierung der Mykobakterien.
Zbl. Bakt. I Orig. 197, 362 (1965)

47.) K l e i n, H.:
Bietet die von Jensen und Gohde beschriebene "fluoreszensmikroskopische Selektivdarstellung des Tuberkelbazillus" Vorteile gegenüber der Auraminfärbung nach Hagemann?
Vet.med.Diss. FU Berlin 1952

48.) K o c h, M. und L. R a b i n o w i t s c h:
Die Tuberkulose der Vögel und ihre Beziehungen zur Säugertuberkulose.
Virchows Arch. path. Anat. S. 246 (1907)

49.) K o v a c s, N.:
Nichtklassifizierte Mykobakterien.
Zbl. Bakt. I Orig. 184, 46 (1962)

50.) K u b i n, M.:
Experimental generalized granulomatosis in guinea pigs produced by high doses of a photochromogenic strain of Mycobacteria.
Amer. Rev. Resp. Dis. 85, 902 (1962)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 190, 227 (1963)

51.) L ä m m l e r, G.:
Die fluoreszensmikroskopische Diagnose der Tuberkulose unter besonderer Berücksichtigung der saprophytären Mykobakterien der Milch.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 60, 393 (1953)

52.) L a n g e, B.:
Über einige den Tuberkelbazillen verwandte säurefeste Saprophyten.
Dtsch. med. Wschr. 46, 763 (1920)

53.) L a n g e, B.:
Weitere Untersuchungen über einige den Tuberkelbazillen verwandte säurefeste Saprophyten.
Dtsch. med. Wschr. 47, 528 (1921)

54.) L e b e k, G.:
Beitrag zur Differentialdiagnostik von menschenpathogenen Tuberkelbakterien und saprophytischen Mykobakterien.
Med.Mschr. 14, 110 (1960)

55.) L e b e k, G.:
Beitrag zur kulturellen Untersuchung von säurefesten, saprophytischen Mykobakterien und Tuberkelbakterien aus menschlichen Ausscheidungen.
Zbl. Bakt. I Orig. 174, 265 (1959)

56.) L e s l i e, J.W.:
Tuberculosis in goats caused by the avian type tubercle bacillus.
Vet. Rec. 72, 25 (1960)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 177, 452 (1960)

57.) L e v c e n k o, J.D.:
Vyzyvannja mikobakterij tuberkul'ozu ptyci v poslidi ta v grunti.
Tvarynnyctvo Ukrainy Kiew 36, 54 (1964)
Ref. in: Landw. Zbl. Abt. IV 10, 371 (1965)

58.) L u k e, O.: Tuberculosis im wild birds.
Vet.Rec. 66, 448 (1954)
Ref. in: Vet.med. 8, 52 (1955)

59.) M a f f u c c i, A.:
Beitrag zur Aetiologie der Tuberkulose (Hühnertuberkulose).
Zbl. allg. Path. 1, 409 (1890)

60.) M e i s s n e r, G.:
Untersuchungen von atypischen Mykobakterien. I. Vergleichende bakteriologische Untersuchungen zu ihrer Erkennung und Gruppeneinteilung.
Beitr. Klin. Tbk. 120, 377 (1959)

61.) M e i s s n e r, G.:
Atypische Mykobakterien. III. Mitteilung. Aviäre und aviumähnliche Stämme.
Zbl. Bakt. I Orig. 180, 510 (1960)

62.) M e i s s n e r, G.:
Vorkommen und Eigenschaften von bakteriologisch und tierexperimentell atypischen Mykobakterien.
Jber. Borstel 5, 408 (1961)

63.) M e i s s n e r, G.:
Atypische Mykobakterien. Die bakteriologischen, klinischen und epidemiologischen Probleme.
Erg. inn.Med. NF 20, 36 (1963)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 197, 218 (1965)

64.) M e y n, A.: Die Hühnertuberkulose und ihre Auswirkungen.
Mhefte Tierhk. 14, Sonderteil Rindertuberkulose und Brucellose 11, 24 (1962)

65.) M e y n, A.: Geflügeltuberkulose und Rindertuberkulose.
Mhefte Tierhk. 7, Sonderteil Rindertuberkulose 4, 1 (1955)

66.) M e y n, A. und Th. S c h l i e ß e r:
Untersuchungen über das Vorkommen von Mykobakterien bei Schlachtschweinen.
Mhefte Vet.med. 17, 49 (1962)

67.) M e y n, A. und H. S t ö f f l e r:
Zur Kenntnis und Systematik der in der Milch vorkommenden Mykobakterien.
Milchwiss. 6, 15 (1951)

68.) M o e l l e r, A.:
Ein neuer säure- und alkoholfester Bazillus aus der Tuberkelbazillengruppe, welcher echte Verzweigungsformen bildet.
Zbl. Bakt. 25, 369 (1899)

69.) N a s s a l, J.:
Geflügelgesundheitsdienst und Sektionsergebnisse in Baden von 1949 bis 1955.
Tierärztl. Umschau 12, 1 (1957)

70.) N a s s a l, J.:
Vorzugsmilch und Geflügeltuberkulose.
Mhefte Tierhk. 10, Sonderteil Rindertuberkulose und Brucellose 7, 94 (1958)

71.) N a s s a l, J.:
Ergebnisse und Probleme der aviären Tuberkulose des Rindes.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 74, 210 (1961)

72.) N a s s a l, J.:
Experimentelle Untersuchungen über die Isolierung, Differenzierung und Variabilität der Tuberkulosebakterien.
Paul Parey, Berlin und Hamburg 1961 (Zbl. Vet.med. Beih. 2)

73.) N a s s a l, J.:
Der Geflügeltyp als ursächlicher Erreger der menschlichen Tuberkulose.
Desinfektion und Gesundheitswesen 53, 12 und 180 (1961)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 184, 573 (1962)

74.) N a s s a l, J.:
Die Tuberkulose des Geflügels und ihre Bedeutung für Mensch und Tier.
Zbl. Med.vet. Reihe B 10, 209 (1963)

75.) N a s s a l, J. und R. M u s e r:
Geflügeltuberkulose und aviär bedingte Neuinfektionen des Rindes in Baden.
Mhefte Vet.med. 16, 121 (1961)

76.) N a s s a l, J. und R. M u s e r:
Die Tuberkulose in großen Geflügelbeständen.
Arch. Geflügelkd. 29, 273 (1965)

77.) N a g a y a m a, G., K. K o n n o und S. O k a:
Formamidase in Mycobacteria and its use in differentiating saprophytic mycobacteria from other mycobacteria.
Nature 190, 1219 (1961)

78.) N e s t l e, R.:
Über die Artbestimmung saprobischer Mykobakterien.
Zbl. Bakt. I Orig. 161, 376 (1954)

79.) N o c a r d, E. und G. R o u x:
Ann. Inst. Pasteur 1, 19 (1887)
zit. nach L.Stoll: Geflügeltuberkulose und ihre Beziehungen zur menschlichen Tuberkulose.
Dtsch.tierärztl. Wschr. 69, 551 (1962)

80.) O l t, A.: Diskussionsbeitrag auf der Versammlung des Hamburg-Altonaer Tierärztlichen Vereins am 4.12.1897.
Ref. in: Dtsch. tierärztl. Wschr. 5, 463 (1897)

81.) P a t t y n, S.R.:
Een scotochromogene mycobacterie oorzak van een huidabsces.
Mschr. kindergeneesk. 31, 113 (1963)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 197, 218 (1965)

82.) P o l l a k, A. und B.V. B u h l e r:
The cultural characteristics and animal pathogenicity of an atypical acid-fast organism which causes human disease.
Amer. Rev. Tbc. 71, 74-87 (1955)

83.) R a e b i g e r, H.:
Die Organisation der Geflügeltuberkulosebekämpfung.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 35, 182 (1927)

84.) R e i n h o l d, L.:
Vorkommen von atypischen Mycobakterien im klinischen Untersuchungsmaterial.
Zbl. Bakt. I Orig. 188, 365 (1963)

85.) R ö d e r, K.H.:
Geflügeltuberkulose beim Rind - durch Tauben übertragen.
Tierärztl. Umschau 19, 11 (1964)

86.) R u d i n s k i, A.:
Prilog poznavanju tuberkuloze živine.
Acta veterin. (Beograd) 13, 47 (1963)
Ref. in: Landw. Zbl. Abt. IV 10, 153 (1965)

87.) R u n y o n, E.H.:
Source of scotochromogens.
Amer. Rev. Tbc. 80, 277 (1959)

88.) S a e n z, A.:
L'infection expérimentale du hamster par le Mycobacterium balnei.
Ann. Inst. Pasteur 94, 442 (1958)

89.) S c h a a f, J. und W. B e e r w e r t h:
Die Geflügeltuberkulose des Rindes, ihre Organlokalisation und ihre Bedeutung als Ursache unspezifischer Tuberkulinreaktionen.
Mhefte Tierhk. 12, Sonderteil Rindertuberkulose und Brucellose 9, 59 (1960)

90.) S c h l a u, J.:
Zwei Fälle von Tuberkuloseerkrankungen beim Menschen durch Infektion mit Hühnertuberkelbakterien.
Med.Klin. 57, 302 (1962)

91.) S ch l i e ß e r, Th.:
Zur Frage der Spezifität der Tuberkulinallergie.
Mhefte Tierhk. 6, Sonderteil Rindertuberkulose 3, 193 (1954)

92.) S c h l i e ß e r, Th.:
Zur Verbreitung und Bedeutung der Geflügeltuberkulose.
Wien.tierärztl. Mschr. 51, 193 (1964)

93.) S c h l i e ß e r, Th.:
Infektionen bei Tieren mit "atypischen" Mykobakterien der Gruppen I, II und IV nach Runyon.
Tbk. Arzt 19, 554 (1965)

94.) S c h l i e ß e r, Th. und W. B e r g e r:
Vergleichende Untersuchungen mit der Frischblut-Schnellagglutination und der Tuberkulin-Kehllappenprobe bei Hühnern.
Mhefte Tierhk. 14, Sonderteil Rindertuberkulose und Brucellose 11, 91 (1962)

95.) S c h n e i d e r l i n, K.:
Über die Biologie der Tuberkuloseerreger.
Med.Diss.Freiburg im Breisgau (1897)

96.) S c h ü r m a n n, E.:
Die Geflügeltuberkulose in ihrer Beziehung zur Tuberkulose beim Schwein.
Vet.med.Nachr. Bayer, Leverkusen
Jg. 1961 S. 84

97.) S o b i e c h, T. und Z. W a c h n i k:
Allergische und serologische Untersuchungen von Rindern aus mit städtischen Abwässern versorgten Gebieten bei Anwendung von Tuberkulinen aus atypischen Mykobakterien.
Arch. exper. Vet.med. 20, 901 (1966)

98.) S o r s n e v, J.F.:
Allergičeskaja reakcija u kur pri soderžanii ich na torfjanoi podstilke.
Veterinarija, (Moskwa) 41, 40 (1964)
Ref. in: Landw. Zbl. Abt. IV, 10, 1960 (1965)

99.) S t ö c k l, W. und H. M a t h o i s:
Charakterisierung der aus Schweinelymphknoten isolierten säurefesten Keime als atypische chromogene Mycobakterien.
Mhefte Tierhk. 11, 73 (1959)

100.) S t ö f f l e r, H.:
Zur Kenntnis der in der Milch vorkommenden apathogenen säurefesten Bakterien.
Vet.med.Diss. München (1949)

101.) S t o l l, L.:
Geflügeltuberkulose und ihre Beziehung zur menschlichen Tuberkulose.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 69, 551 (1962)

102.) T a r s h i s, M.S. und A.W. F r i s c h:
Chromogenic acid-fast bacilli from human sources, Cultural studies.
Am.Rev.Tbc. 65, 278 (1952)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 151, 439 (1953/54)

103.) T a r s h i s, M.S. und A.W. F r i s c h:
Chromogenic acid-fast bacilli from human sources, Hypersensitivity studies.
Amer.Rev. Tbc. 65, 302 (1952)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 151, 439 (1953/54)

104.) T a r s h i s, M.S. und A.W. F r i s c h:
Chromogenic acid-fast bacilli from human sources, Pathogenic studies.
Amer. Rev. Tbc. 65, 289 (1952)
Ref. in: Zbl. Bakt. I Ref. 151, 439 (1953/54)

105.) T a u b i t z, K.:
Die Geflügeltuberkulose.
Dtsch. Wirtschaftsgeflügelzeitung 7, 735 (1955)

106.) T e s i n k, J., K.G. und A.S. R o b i j n s:
Het aantonen van in faeces en bodem voorkomende aviaire tubercelbacterien door middel van intraperitoneale injectie bij kippen.
Tschr. diergeneesk. 85, 1214 (1960)
Ref. in: Landw. Zbl. Abt. IV, 6, 1655 (1961)

107.) T h i e r i n g e r, H.:
Über den Nachweis von Tuberkelbazillen im Kote von Rindern.
Arb. Gesd.amt, Berlin 43, 545 (1913)

108.) V i a l l i e r, J., F. Ca s a n o v a und R. L a n e r y:
Mycobacterium kansasii son activité pathogene pour l'animal et l'homme.
Bull.Soc. Sci. vétérin. Med.Lyon 67, 21 und 29 (1965)

109.) W a r j u s c h i n, W.J. u.a.:
Ob infizirowannosti pomeschtschennij i wigulow wosbuditelem tuberculesa ptiz na neblagopolutschnich ptizefermach.
Veterinarija, Moskwa 37, 44 (1960)
Ref. in: Landw. Zbl. Abt. IV, 6, 307 (1961)

110.) W i l s o n, CG. und D.E. M o r t e n:
The clinical incidence of acid-fast bacilli non pathogenic for guinea pigs.
Amer.Rev. Tbc. 73, 351 (1956)

111.) W i t t e, J.:
Beitrag zur Züchtung von Tuberkelbakterien unter besonderer Berücksichtigung des Typus bovinus.
Zschr. Inf.Krkh. Haustiere, Berlin 48, 14 (1935)

112.) Y o u m a n s, G.P.:
The pathogenic, "atypical" mycobacteria
Amer.Rev.Microbiol. 17, 473 (1963)

Herrn Oberregierungsveterinärrat Dr. Münker möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas sowie für den mir zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz und die gewährte Unterstützung herzlich danken.

Mein Dank gilt besonders Herrn Prof. Dr. Hartwigk, dem Direktor des Institus für Veterinär-Hygiene der Freien Universität Berlin, für die Übernahme der Arbeit.

Ferner danke ich Herrn Oberregierungsveterinärrat Dr. Beerwerth für die vielen Anregungen, die er mir bei den Untersuchungen und der Abfassung der Arbeit zuteil werden ließ.

Für die gewährte Hilfe bei der Durchführung der technischen Arbeiten bin ich der technischen Assistentin Fräulein Ursula Kessel zu besonderem Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 2. März 1937 wurde ich, Josef Schürmann, als Sohn des Landwirts Josef Schürmann und seiner Ehefrau Antonia geb. Schulze Eistrup in Nottuln, Krs. Münster geboren. Nach 4 Jahren Grundschule in Nottuln besuchte ich das Staatliche Gymnasium in Coesfeld und legte dort am 8.3.1958 die Reifeprüfung ab. Im Sommersemester 1958 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Dort bestand ich am 4.7.1960 die tierärztliche Vorprüfung. Im 5. Semester studierte ich an der Tierärztlichen Hochschule in Wien und setzte dann das Studium an der Tierärztlichen Hochschule Hannover bis zur Ablegung der tierärztlichen Prüfung am 14.5.1964 fort. Nach Ablegung der Praktikantenzeit bei Dr. Stammen in Geldern erhielt ich mit Wirkung vom 1.4.1965 die Bestallung als Tierarzt. In der Folgezeit war ich als Angestellter in der tierärztlichen Praxis tätig.

Vom 1. August 1966 bis zum 1. Mai 1967 führte ich am Staatlichen Veterinäruntersuchungsamt in Münster/Westfalen die Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit durch.